１６消安第１１０６３号
平成１７年３月３１日

各植物防疫（事務）所長　殿

消費・安全局長

平成１７年度における遺伝子組換え生物等に係る立入検査等の実施について

遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（平成１５年法律第９７号。以下「法」という。）に基づく承認が得られていない遺伝子組換え生物等について、わが国に輸入される農作物に対する混入実態を把握し、わが国への流入を防止する当面の措置として、当該生物に関し法第３１条第１項に基づく立入検査等を実施するため、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律に係る検査等規則（平成１６年農林水産省訓令第１２号）第３条第２項及び第９条に基づき、別紙のとおり「平成１７年度における遺伝子組換え生物等に係る立入検査等実施要領」を定めたので、御了知の上、適切な実施方よろしくお願いする。

（別紙）

平成１７年度における遺伝子組換え生物等に係る立入検査等実施要領

１．実施期間

平成１７年４月１日から平成１８年３月３１日まで

２．対象及び実施件数等

（１）検査対象

栽培の用に供するトウモロコシ種子を立入検査等の対象（以下「検査対象」という。）とし、当該検査対象が除草剤グルホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性トウモロコシCBH351（スターリンク。以下「分析対象」という。）を含有するかどうかについて分析検査を実施すること。

（２）検査件数

① 原則として１００件を下回らない件数の検体を収去すること。

② 収去に当たっては、当該検査対象の輸入実態等を勘案し、以下の点に留意すること。

ア 分析対象の生産国であるアメリカ合衆国からの輸入物の検査を重点的に行うこと。

イ 収去を行う際は、概ね100kg以上の荷口を対象とすること。

ウ 収去する対象を選定するに当たっては、ア、イの事項に留意した上で、期間別及び各検査機関管内における輸入実態を反映した収去数とすること。

（３）実施機関

横浜植物防疫所、名古屋植物防疫所、神戸植物防疫所、門司植物防疫所及び那覇植物防疫事務所（支所及び出張所を含む。以下「検査機関」という。）が立入検査等において検体の収去を実施し、収去した検体は、３．（７）①に定める適切な方法により運搬又は送付の上、横浜植物防疫所（以下「分析機関」という。）において分析検査を実施すること。

３．検体の検査

（１）検体の収去に当たっては、以下の手順により、分析検査に必要な量の検体を採取すること。なお、この検査においては、１回の検査につき2,400粒の種子を使用するため、確認検査に使用する分及び夾雑物の除去等により発生するロスを見込み、１検体につき1.5kg以上（5,000粒以上）の種子を収去すること。品種により1.5kgで5,000粒に満たない場合は、5,000粒を確保できる量を収去すること。

① 荷口全体の中から、荷姿、品種、その他関係書類等で確認できる均一な一定量を単位として、検査の対象とするロットを設定すること。

② 袋積み又は少量ずつ小分けになっている荷口の場合は、設定したロットの大きさに応じ、以下の表に従い（抽出した梱から検査に必要な量の試料を採取できないと

きは、適宜追加抽出を行う）当該ロットから一定数の袋を無作為に抽出すること。

・１梱当たりの重量が100kg以下の場合

ロットの大きさ			開梱数
1	～	2	全数
3	～	27	３以上
28	～	64	４以上
65	～	125	５以上
126	～	216	６以上
217	～		７以上

・１梱当たりの重量が100kgを超える場合

ロットの大きさ			開梱数
		1	全数
2	～	8	２以上
9	～	27	３以上
28	～	64	４以上
65	～	125	５以上
126	～	216	６以上
217	～		７以上

* 表の抽出数は、輸入種苗検疫要綱（昭和53年９月30日付け53農蚕第6963号農蚕園芸局長通達）第８の２に規定する栽培用種子に関する１次検査の方法に準拠するものである。

③　設定したロット全体又は抽出した袋から当該ロット全体を代表する検体となるよう一定量を採取すること。採取物の全量または必要に応じて採取物を縮分したものを１検体として収去すること。

（２）検体の採取に当たっては、以下の点に留意すること。

①　遺伝子組換え生物が不均一に分布しているということを前提として、ロットを代表するような検体採取を行うため、対象となるロットの大きさ、荷姿、包装形態に応じて検体採取を行うこと。

②　検体採取に際しては、他ロットの種子が混入しないよう十分配慮し、使用する器具・容器包装等は使い捨てのものを使用するか、その都度、十分に洗浄等を行い使用すること。

（３）検査職員は、立入検査等に当たっては、その内容等をとりまとめた別記様式第１による立入検査等記録書を作成し、被検査者又は被検査者の委任を受けた者であって当該検査に立会う者（以下「立会人等」という。）に閲覧させること。

（４）検査職員は、立会人等の求めに応じて、別記様式第２により見本採取票を発行することができる。

（５）収去した検体は、当該検査についての立入検査等記録書の写しとともに分析機関に送付し、速やかに分析検査に供すること（検査機関と分析機関が同一の機関の場合は、速やかに分析検査に供すること。）。

（６）分析検査に際しては、別添１により、正確かつ迅速に実施すること。

（７）その他

①　検査機関及び分析機関は、検体の取扱い、試薬等の管理、機械器具の保守管理、検査の実施に当たっては、ここに定める事項のほか、JIS Q 17025「試験所及び校正機関の能力に関する一般的要求事項」、又は別添２に基づき、作業の管理を行う

こと。また、各検査機関における作業の細部について記載した作業書等を作成の上作業を実施し、各作業ごとに詳細な記録を残すことにより、検査の精度及び信頼性の確保を図ること。

②　分析検査に供した検体及び粉砕物の残り並びに検査過程で得られた標本については、疑義が生じた場合等の再検査等に備え、原則として最低３ヶ月間は良好な条件の下で保管すること。

４．検査結果の報告

（１）分析機関は、分析検査の結果、検体から分析対象である遺伝子組換え生物等が検出された場合には、直ちに別記様式第３により植物防疫課を経由して農産安全管理課に報告するとともに、当該検体の収去を実施した検査機関にその旨連絡し、別途消費・安全局長の指示に従うこと。

（２）分析機関の長は、分析検査を実施したときは、遅滞なく別記様式第４により、当該検体の収去を実施した検査機関の長に連絡すること。

（３）検査機関の長は、当該検体の分析検査の結果を被検査者の求めに応じ、別記様式第５により通知することができる。

（４）分析機関は、毎月の検査の結果を取りまとめ、別記様式第６により四半期毎に当該四半期が終了した翌月の１５日までに植物防疫課を経由して農産安全管理課に報告すること。

５．その他

（１）当該検査は、輸入貨物に対して無作為に抽出を行い実施するものであり、特定の輸入者等に偏ることのないよう行うとともに、輸入者の申出により省略するものではないことに留意すること。

（２）円滑な立入検査を実施するため必要と判断される場合で、通告しても適切な立入検査の実施に支障が生じない場合には、あらかじめ被検査者に通告して検査することができる。

（別添１）

栽培用種子における遺伝子組換えトウモロコシ（CBH351）の検査方法について

トウモロコシ種子について、ラテラルフロー法または定性PCR法で分析し、陽性と判定された場合は定性PCR法により確認検査を行う。なお、確認検査の際は、新たに2,400粒の種子を準備し検査を行う。確認検査においても陽性と判定された場合は、当該検体を陽性と判定する。

＊　試料の処理方法等の選択・組合わせ、それらの手順、結果の判定方法等について、あらかじめ詳細を作業書等に定めておくこと。

1.　試料の準備

検査に用いるトウモロコシ種子は、破砕粒や他の混入物を取り除いた完全粒とし、十分に洗浄・乾燥を行い、表面に他の付着物がないことを確認すること。

定性PCR法に用いる粉砕物は、0.5㎜メッシュを通過したものを用いることを推奨する。また、試料間のコンタミネーションを避けるため、粉砕時の環境や使用器具の取扱いは充分に配慮すること。コンタミネーション対策は、独立行政法人農林水産消費技術センター作成の「JAS分析試験ハンドブック　遺伝子組換え食品検査・分析マニュアル（改訂第２版）コンタミネーション防止編」を参考にすること。

2.　ラテラルフロー法

検査に用いるトウモロコシ種子数は2,400粒とし、テストキットの仕様によって、例えば800粒用キットの場合は３回に分け、600粒用キットの場合は４回に分けて試験を行う。市販のテストキットは、Strategic Diagnostics社（SDI）製<Trait>Bt9 Corn Grain 5-Minute Test Kit（Part# 7000012）、Neogen Corporation製Agri-Screen R Cry9C Strip Test（Part# 8003）またはこれらと同等の結果が得られるものを用いる。以下に記述する方法は、キットの説明書に記載の方法と基本的に同一である。キットの仕様・手順等が変更された場合は、キットの説明書に従い分析を行うこと。なお、試験を行う場合には、水は特に断り書きがない限り、全て逆浸透膜精製したRO水または蒸留水を用いることを推奨する。

2.1. <Trait>Bt9 Corn Grain 5-Minute Test Kit（Part# 7000012）

2.1.1. 実験操作

採取したトウモロコシ種子から無作為に完全粒で800粒を採取し粉砕した後、粉砕物を500mL容量程度の口の広い蓋付きの容器に採り、試料の重量の1.25倍量の水を加えたのち、10～20秒間、試料が全て湿潤するまで良く振とうし、静置する。もしこの段階で上澄み液が生じなければ、さらに少量の水を加え、試料を良く振とうし、静置後上澄み液が生じたどうか観察する。数mL程度の上澄み液が生じるまで少量の水を加え同様の操作を行う。次に、試料の上澄み液0.5mLをキット付属の1.5mL容チューブに移し、そのチューブにTrait Bt9テストストリップを垂直に立てる。

2.1.2. 判定法

テストストリップをチューブに立てて静置し、５分経過した時点*で、テストストリップの表示部を観察する。赤色のラインがテストストリップ表示部に２本現れれば陽性、コントロールライン１本のみが現れれば陰性と判定する。また、１本も現れなければ、その試験は無効とし、再試験を行う。１検体３回（計2,400粒）の試験のうち１回でも陽性のものがあった場合、その検体を陽性と判定する。

*　５分間以上経過すると赤色のラインが濃くなる場合があり、正しく判定することができないので、注意が必要である。

2.2. Agri-Screen R Cry9C Strip Test（Part# 8003）

2.2.1. 実験操作

採取したトウモロコシ種子から無作為に完全粒で800粒を採取し粉砕した後、粉砕物を500mL容量程度の口の広い蓋付きの容器に採り、水400±20mLを加えたのち、30～40秒間、試料が全て湿潤するまでよく振とうし、静置する。次に試料の上澄み液0.5mLをキット付属の1.5mL容チューブに移し、そのチューブにAgri-Screen R Cry9Cテストストリップを垂直に立てる。

2.2.2. 判定法

テストストリップをチューブに立てて静置し、10分経過した時点*で、テストストリップの表示部を観察する。赤色のラインがテストストリップ表示部に２本現れれば陽性、コントロールライン１本のみが現れれば陰性と判定する。また、１本も現れなければ、その試験は無効とし、再試験を行う。１検体３回（計2,400粒）の試験のうち１回でも陽性のものがあった場合、その検体を陽性と判定する。

*　10分間以上経過すると赤色のラインが濃くなる場合があり、正しく判定することができないので注意が必要である。

3. 定性PCR法

定性PCR法は、抽出されたDNAの一部をプライマー対を用いてPCR増幅し、電気泳動法により、その増幅DNAを検知する方法である。

検査は、採取したトウモロコシ種子から無作為に完全粒で2,400粒を採取し、2,400粒を２回以上に分割し、それぞれ検査を行う。3.1.のDNA抽出精製法に従って、分割した検体のそれぞれにつき２回並行でDNA抽出を行い、得られたDNA溶液を用い、3.3.の条件で定性PCRを行う。１検体２回以上（計2,400粒）の検査のうちいずれかが陽性となった場合、その検体を陽性と判定する。

*　本項では、2,400粒を1,200粒ずつ２回に分けて検査を行うこととする。

*　PCRでは、鋳型DNAが微量存在しても増幅される。したがって、目的外のDNA（特にPCR増幅産物）の混入に特に注意を払う必要がある。また、DNAは、人間の皮膚表面から分

泌されているDNA分解酵素により分解されるので、本酵素の混入を防止しなければならない。これらの点を考慮し、使い捨てのチューブ、チップ等を使用し、DNA、DNase等がコンタミネーションしないよう注意して用いること。また、定性PCRの際に用いる水は、特に断り書きがない限りすべて逆浸透膜精製したRO水又は蒸留水をMilli-Q等で17MΩ/cmまで精製した超純水をオートクレーブで121℃、15分間以上で滅菌したものなど、DNA、DNase等がコンタミネーションしていないものを用いること。

＊　また、独立行政法人農林水産消費技術センター作成の「JAS分析試験ハンドブック　遺伝子組換え食品検査・分析マニュアル（改訂第２版）コンタミネーション防止編」も参考にし、コンタミネーション防止に細心の注意を払うこと。

3.1. DNA抽出精製

採取したトウモロコシ種子から無作為に完全粒2,400粒を採取し、3.に従い分割したそれぞれの検体を均質に粉砕して、それぞれから２回並行でDNAを抽出する。DNA抽出は、市販のDNA抽出キットを使用する方法、界面活性剤セチルトリメチルアンモニウムブロミド（CTAB）を使用する方法等いくつかの方法があるが、界面活性剤セチルトリメチルアンモニウムブロミド（CTAB）とフェノール/クロロホルム混合液を用いて抽出精製するCTAB法は、応用範囲が広い上、PCR阻害物質が残存しにくく、純度の高いDNAを得ることができる非常に優れた方法であるが、フェノール、クロロホルムという有害試薬を用いること及び煩雑な精製操作が必要という欠点がある。一方、市販のDNA抽出キットを用いるとこれらの欠点を解消することができる。市販のDNA抽出キットには、シリカゲル膜タイプのもの、シリカベースのレジンタイプのもの、イオン交換樹脂タイプのもの、マグネット吸着ビーズタイプのものがあるが、いずれの方法を利用しても、トウモロコシの種子からPCRに利用可能なDNAを抽出精製することができる。以上の点を考慮して、本項では、CTAB法、シリカゲル膜タイプのキット（QIAGEN DNeasy Plant Mini Kit または QIAGEN DNeasy Plant Maxi Kit）、シリカベースのレジンタイプのキット（Promega Wizard DNA Clean-up System）を用いたDNA抽出法を記す。

3.1.1. CTAB法

均質に粉砕された試料２gをポリプロピレン製遠沈管（50mL容）に量り採り、CTAB緩衝液[*1]15mLを入れ、ホモゲナイザーで組織が見えなくなるまで均一化する。遠沈管の縁とホモゲナイザーの先を洗浄するように CTAB緩衝液30mLを加え、転倒混和後55℃で30分間放置する。次いで放置液を撹拌し、均質化した溶液600μLをマイクロ遠沈管（1.5mL容）に量り採る。次いで500μLのフェノール/クロロホルム混合液[*2]を加え、転倒混和後ミキサーで軽く懸濁し、7,500×gで15分間室温遠心後、水層（上層）を新しいマイクロ遠沈管に移す。この時中間層に触れないように注意する。クロロホルム/イソアミルアルコール混合液[*3]500μLを加え、転倒混和後ミキサーで軽く懸濁し、7,500×gで15分間室温で遠心後、水層（上層）を新しいマイクロ遠沈管に移す。等容量のイソプロピルアルコール（室温）を加え、転倒混和後7,500×gで10分間室温遠心し、デカンテーションで上澄み液を捨てる。500μLの70%エタノールを壁面から静かに加え、7,500×gで１分間室温遠心し、沈殿に触れないようにできる限りエタノールを吸い取り捨てる。その後、２～３分間真空乾燥する。このとき完全に乾燥しないように注意する。50μLのTE緩衝液[*4]を加えてよく混和後、室温に15分間放置して、時々転倒混和して完全に溶かす。

RNase A ５µLを加え、37℃で30分間放置する。200µLのCTAB緩衝液を加えた後、250µLのクロロホルム/イソアミルアルコール混合液を加え、転倒混和後ミキサーで軽く懸濁し、7,500×gで15分間室温遠心後、水層（上層）を新しいマイクロ遠沈管に移す。このとき、中間層に触れないように採取する。200µLのイソプロピルアルコールを加え、転倒混和してから、7,500×gで10分間、室温で遠心し、デカンテーションで上澄み液を捨てる。次いで、200µLの70%エタノールを壁面から静かに加え、7,500×gで１分間室温遠心し、沈殿に触れないようにできる限りエタノールを吸い取り捨てる。その後、２～３分間真空乾燥する。このとき、完全に乾燥しないよう注意する。50µLの水を加えて混合した後、15分間室温に放置して、時々転倒混和して完全に溶解したものをDNA試料原液とする。

*1　CTAB緩衝液

ビーカーに、0.5mol/L EDTA（pH8.0）８mL、１mol/L Tris－塩酸（pH8.0）20mL、５mol/L食塩水56mLを入れ、約150mLとなるように水を加え、撹拌しながらCTAB４gを加えて完全に溶解する。さらに水を加え全量を200mLとし、オートクレーブで滅菌したものをCTAB緩衝液とする。

*2　フェノール/クロロホルム混合液

１mol/L Tris－塩酸（pH8.0）飽和フェノールとクロロホルム/イソアミルアルコール混合液＊３を１：１（v/v）で混合したものをフェノール/クロロホルム混合液とする。

*3　クロロホルム/イソアミルアルコール混合液

クロロホルムとイソアミルアルコールを24：１（v/v）で混合したものをクロロホルム/イソアミルアルコール混合液とする。

*4　TE緩衝液

各最終濃度が10mmol/L Tris－塩酸（pH8.0）、１mmol/L EDTA（pH8.0）となるように水を用いて調製したものをTE緩衝液とする。

3.1.2 シリカゲル膜タイプキット法①（QIAGEN DNeasy Plant Mini Kit を使用する方法)

均質に粉砕した試料２gをポリプロピレン製遠沈管（50mL容）に量り採り、あらかじめ65℃に温めておいたAP1緩衝液*1 10mLとRNase A 20µLを加え、試料塊がないようにボルテックスミキサーで激しく混合し、65℃で15分間加温する。その間２、３回、遠沈管を反転させて試料を攪拌する。AP2緩衝液*2 3,250µLを加え、氷上に10分間静置した後、4,000×g以上、４℃の条件で20分間遠心する*3。次いでその上清500µLをQIAshredder spin columnに負荷し、10,000×g以上で４分間遠心後、溶出液を遠沈管（15mL容）に移す。この操作を再度繰り返した後、その溶出液の1.5倍量のAP3緩衝液*4・エタノール混液*5を加える。その混合液500µLをmini spin columnに負荷し、10,000×g以上で１分間*6遠心する。残りの混合液のうち、さらに500µLを同じmini spin columnに負荷し、同条件で遠心し溶出液を捨てる。最終的に混合液がすべてなくなるまで同様の操作を繰り返す。次いでAW緩衝液*7 500µLを負荷し、10,000×g以上で１分間*6遠心し、溶出液を捨てる。同様の操作を計３回繰り返す。溶出液を捨て、mini spin columnを乾燥させるため、10,000×g以上で20分間遠心する。mini spin columnをキットの遠沈管に移し、

あらかじめ65℃に温めておいた水70μLを加え、５分間静置した後、10,000×g以上で１分間遠心しDNAを溶出する。もう一度水を加え、同じ操作を行い、得られた溶出液を合わせ、DNA試料原液とする。

＊1　AP1緩衝液
　シリカゲル膜タイプのキット（QIAGEN DNeasy Plant Mini Kit）付属のもの、あるいは別途購入したのものを用いる。

＊2　AP2緩衝液
　シリカゲル膜タイプのキット（QIAGEN DNeasy Plant Mini Kit）付属のもの、あるいは別途購入したものを用いる。

＊3　遠心後の上清
　上清を確認し、澄明でない場合には、同条件での遠心操作を再度繰り返し、以降の操作を行う。

＊4　AP3緩衝液
　シリカゲル膜タイプのキット（QIAGEN DNeasy Plant Mini Kit）付属のもの、あるいは別途購入したのものを用いる。

＊5　AP3緩衝液・エタノール混液
　AP3緩衝液＊4 とエタノール（96-100%）を１：２で混合したものをAP3緩衝液・エタノール混液とする。

＊6　遠心時間
　mini spin columnに負荷する液の性状により、カラムの通過に時間がかかることがある。すべての液がカラムを通過するのに必要な遠心時間を適宜調整する。

＊7　AW緩衝液
　使用する直前に、容器ラベルに記載された適量のエタノール(96-100%)を混合したものをAW緩衝液とする。

3.1.3. シリカゲル膜タイプキット法②(QIAGEN DNeasy Plant Maxi Kit を使用する方法)
　均質に粉砕された試料１gを50mL容チューブに量り採り、あらかじめ65℃に温めておいたAP1緩衝液５mLと、RNase A（キット付属）10μLを加え、試料がチューブの底に残らなくなるまで転倒混和した後、試験管ミキサーで激しく混合し、65℃の恒温水槽内で１時間保温する。その間15分ごとに３回、試料を激しく転倒混和した後、試験管ミキサーを用いて10秒間最高速で撹拌する。反応後のチューブにAP2緩衝液1.8mLを加え、試験管ミキサーを用いて10秒間最高速で撹拌後、氷中に15分間静置する。次にスイング式遠心分離器を使用し、3,000×gで室温で15分間遠心分離する＊1。上清を4.2mL採取し＊2、QIAshredder spin column（lilac）に負荷し、3,000×gで室温で５分間遠心分離後、上清４mLを新しい50mL容チューブに移す＊2。このチューブを試験管ミキサーを用いて最高速で10秒間撹拌後、3.4mLを採取し、新しい50mL容チューブに移す。次いで、5.1mLの

AP3/Et-OH緩衝液を加え、試験管ミキサーを用いて最高速で10秒間撹拌後、溶液全量をDNeasy Spin Column（colorless）に負荷し、3,000×gで室温で５分間遠心分離する。遠心後、溶出液を廃棄し、カラムにAW緩衝液12mLを負荷し、3,000×gで室温で15分間遠心分離する。その後、カラムをキット付属の50mL容チューブに移し、あらかじめ65℃に温めておいた水１mLを加え、５分間室温で静置後、3,000×gで室温で10分間遠心分離する。この溶出液の液量を量り、２mL容のチューブに移し、溶出液と等量のイソプロパノールを添加する。このチューブを上下にゆっくり10回転倒混和後、５分間室温で静置する。その後、12,000×gで、４℃、15分間遠心分離後、上清を廃棄する。500μLの70%エタノールを加えて沈殿物を洗浄後、再び12,000×gで、４℃、３分間遠心分離し、上清を廃棄する。沈殿物を乾燥させた後、50～100μLのTE緩衝液[*3]を加えて沈殿物を溶解し、DNA試料原液とする。

[*1] 以下、カラムの遠心分離操作は、スイング式遠心分離器を使用する。

[*2] 沈殿物や上層の膜を吸わないように注意する。

[*3] 各最終濃度が10mmol/L　Tris-塩酸（pH8.0）、１mmol/L EDTA（pH8.0）となるように水を用いて調製したものをTE緩衝液とする。

3.1.4. シリカベースレジンタイプキット法

均質に粉砕した試料２gをポリプロピレン製遠沈管（50mL容）に量り採り、抽出用緩衝液[*1]17.2mL、５mol/L グアニジン-塩酸２mL及び、20mg/mL Proteinase Kを0.8mL加え、激しくボルテックスミキサーで撹拌後、55～60℃で振とうしながら３時間保温する。次いで、室温まで温度を下げ、3,000×gで10分間遠心する。上清が濁っている場合、上清の一部をマイクロ遠沈管(1.5mL容)に移し、更に14,000×gで10分間遠心する。得られた澄明な上清500μLと、DNA Clean-up Resin１mLをマイクロ遠沈管(1.5mL容)に採り、転倒混和し、混合液とする。次にmini columnの上部に注射筒を付け、マニホールド（吸引装置）[*2]に装着する。マニホールドのコックが閉じていることを確認した後、混合液を注射筒からmini columnに負荷する。コックを開け、減圧吸引して溶液を完全に除去し、次いで２mLの80%イソプロピルアルコールを注射筒から加えカラムを洗浄する。注射筒を外したmini columnをマイクロ遠沈管（1.5mL容）に装着し、室温下10,000×gで２分間遠心し、カラムを乾燥する。次にmini columnを新しいマイクロ遠沈管（1.5mL容）に移し、あらかじめ65～70℃に温めておいた水50μLを滴下する。１分間放置後、室温下10,000×g以上で１分間遠心し、DNAを溶出し、得られた溶出液をDNA試料原液とする。

[*1] 抽出用緩衝液
150mM 塩化ナトリウム、２mmol/L EDTA及び１% SDSを含む10mmol/L Tris-塩酸緩衝液（pH7.5）

[*2] 吸引装置
吸引装置がない場合には、遠心等で同様の結果が得られる。

3.2. DNA試料原液中のDNAの純度の確認並びにDNA試料液の調製と保存

DNA試料の適当量を取りTE緩衝液で10～50倍希釈して200～300nmの範囲で紫外部吸収スペクトルを測定し、230nm、260nm及び280nmの吸光度（O.D.230、O.D.260及びO.D.280*）を記録する。次いでO.D.260が１のときのDNA濃度を50ng/μL DNAとして、DNA試料原液のDNA濃度を算出する。またO.D.260/O.D.280を計算する。この比が1.7～2.0になれば、DNAが十分に精製されていることを示す。得られたDNA濃度から、DNA試料原液を以後のPCRに必要な濃度に水で希釈しDNA試料液とし、-20℃以下で冷凍保存する。冷凍保存したDNA試料液は、融解後直ちに使用する。なお、DNA試料原液の濃度がPCRで規定された濃度に達しないときは、そのままDNA試料液として用いる。

* O.D.260がDNA由来の吸光度、O.D.280がタンパク質等不純物由来の吸光度と考える。

3.3. PCR増幅

PCR用反応試料管に反応液を以下のように調製する。反応液は、PCR緩衝液*1、0.20mmol/L dNTP、３mmol/L 塩化マグネシウム、0.2μmol/L ５'及び３'プライマー*2並びに0.625units Taq DNAポリメラーゼ*3を含む液に、10ng/μLに調製したDNA試料液2.5μL（DNAとして25ng）を氷中で加え、全量を25μLにする。次に、その反応試料管をPCR増幅装置*4にセットする。反応条件は次の通りである。95℃に10分間保ち反応を開始させた後、95℃ 0.5分間、60℃ 0.5分間、72℃ 0.5分間を１サイクルとして、40サイクルのPCR増幅を行う。次に終了反応として72℃で７分間保った後、４℃で保存し、得られた反応液をPCR増幅反応液とする。PCR反応のブランク反応液として、必ずプライマー対を加えないもの及びDNA試料液を加えないものについても同時に調製する。また、試料からDNAが抽出されていることの確認として、DNA試料液ごとに、CBH351検出用プライマー対の代わりに内在性遺伝子Zein検出用プライマー対*5を用い、同様にPCR増幅を行う。

なお、陽性対照を設定する場合は、DNA試料液の代わりに市販の陽性対照プラスミドを用いた反応液を同時に調製し、同様にPCR増幅を行う。

*1 PCR緩衝液

PCR buffer II（アプライドバイオシステムズ社製）又は同等の結果が得られるものを用いる。

*2 CBH351検出用プライマー対は以下の通りである。

F-primer（CaM03-5'）：５'-CCT TCG CAA GAC CCT TCC TCT ATA-３'

R-primer（CBH02-3'）：５'-GTA GCT GTC GGT GTA GTC CTC GT-３'

*3 Taq DNAポリメラーゼ

AmpliTaq Gold DNAポリメラーゼ（アプライドバイオシステムズ社製）又は同等の結果が得られるものを用いる。

*4 PCR増幅装置

GeneAmp PCR System 9700（アプライドバイオシステムズ社製）又は同等の結果が得られるものを用いる。

＊5　内在性遺伝子Zein検出用プライマー対は以下の通りである。
F-primer（Zein n-5'）：５'-CCT ATA GCT TCC CTT CTT CC-３'
R-primer（Zein n-3'）：５'-TGC TGT AAT AGG GCT GAT GA-３'

3.4．アガロースゲル電気泳動
PCR増幅反応液をアガロースゲル電気泳動により分離し、DNA増幅バンドを確認する。

3.4.1．アガロースゲルの作成
必要量のアガロースを秤量し、TAE緩衝液＊1を加え、加熱してアガロースを溶解する。次に100mL当たり５μLのエチジウムブロミド溶液＊2（10mg/mL）を加え、ゲルが50℃前後まで冷やした後、ゲルメーカーにゲルを流し込み、室温で十分に冷やし固めてゲルを作製する＊3。ゲルはすぐに使用するのが望ましいが、緩衝液に浸して数日間保存することもできる。ゲルの濃度は泳動するDNAの長さに応じて決める必要があるので、泳動する目的産物のバンド長にあわせてゲル濃度（1.0～4.0%）を決める。

＊1　TAE緩衝液
各最終濃度が40mmol/L Tris-酢酸、１mmol/L EDTAとなるように蒸留水を用いて調製したものをTAE緩衝液とする。

＊2　エチジウムブロミド
２本鎖DNAの鎖の間に入り込む蛍光試薬であり、強力な発ガン作用と毒性がある。取扱いには必ず手袋をはめ、マスクを着用すること。

＊3　前染色
ここでは、前染色法を述べる。この段階でエチジウムブロミド溶液を加えず、電気泳動終了後、3.4.3.に従って、ゲルを後染色しても良い。

3.4.2．電気泳動
TAE緩衝液を満たした電気泳動漕にゲルをセットする。PCR増幅反応液5.0～7.5μLと適当量のゲルローディング緩衝液を混ぜ合わせた後、ゲルのウェルに注入する。ゲルへの試料注入に時間がかかりすぎると、DNAが拡散し鮮明な結果が得られにくくなるので注意する。次に、100V定電圧で電気泳動を行い、ゲルローディング緩衝液に含まれるBPBがゲルの1/3から2/3まで進んだところで電気泳動を終了する。

3.4.3．ゲルの染色（後染色）
前染色を行った場合は本項の操作は必要ない。
ゲルが浸る量のTAE緩衝液が入った容器に、泳動後のゲルを移し入れる。次に緩衝液100mL当たり、５μLのエチジウムブロミド溶液（10mg/mL）を加え、容器を振とう器に乗せて軽く振とうしながら30分程度染色する。

3.4.4．ゲルイメージ解析
ゲルイメージ解析装置内のステージに食品包装用ラップ＊を置き、その上に電気泳動と染色が終了したゲルをのせて紫外線（312nm）を照射する。ゲルイメージ解析装置の

画面で電気泳動パターンを確認する。DNA分子量標準と比較して目的のバンドの有無を判定する。ブランク反応液で対応するPCR増幅バンドが検知された場合は、DNA抽出操作以降の結果を無効として、改めて実験をやり直す。泳動結果は画像データとして保存しておく。

* 食品包装用ラップ
ポリ塩化ビニリデン製のフィルムでないと紫外線は吸収されてしまい、像が得られない場合があるので注意を要する。

3.5. 結果の判定

内在性遺伝子Zein検出用プライマー対を用いたレーンで157bpのPCR増幅バンドが検出され、CBH351検出用プライマー対を用いたレーンで170bpのPCR増幅バンドが検出された場合、新たに同一のDNA試料液を用いPCR反応液を調製し、確認用プライマー対* を用いPCR増幅を行う。得られたPCR増幅反応液についてアガロースゲル電気泳動、ゲルイメージ解析を行い、171bpの増幅バンドが検知された場合、本検体はCBH351陽性と判定する。なお、２つのDNA抽出液での結果が異なった場合は陽性と判定する。また、どちらか一方の抽出液においてZein検出用プライマー対で予定長の増幅バンドが検出されない場合には、再度電気泳動以降の操作を行い、それでも予定長の増幅バンドが検出されない場合には、その抽出液での結果を無効とし、もう一方の抽出液の結果だけで判定する。２つのDNA抽出液ともZein検出用プライマー対を用いたレーンで対応する増幅バンドが検出できない場合には、改めて３回目の抽出を行い、さらにPCR以降の操作を実施して、判定を行う。３回目のDNA抽出液を用いた場合でもZein検出用プライマー対でPCR増幅バンドが検出されないときは、本試料からの未承認の種子の検知は不能とする。以下に判定例を示す。

判定例

	試料番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
抽出１	Zein検出用プライマー	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	検出用プライマー	+	+	+	+	-	-	+	+	/
	確認用プライマー	+	+	+	+	/	/	-	-	/
抽出２	Zein検出用プライマー	+	+	+	-	+	-	+	-	-
	検出用プライマー	+	+	-	-	-	-	+	-	/
	確認用プライマー	+	-	/	/	/	/	-	/	/
判　　定		陽性	陽性	陽性	陽性	陰性	陰性	陰性	陰性	/

試料番号９の例の場合には、３回目の抽出を行う。
+ は陽性、- は陰性、/ は検査不要を表す。

* CBH351確認用プライマー対は以下の通りである。
F-primer (Cry9C-5') ：５'-TAC TAC ATC GAC CGC ATC GA-３'
R-primer (35Ster-3')：５'-CCT AAT TCC CTT ATC TGG GA-３'

（別添２）

立入検査等に係る作業管理等要領

１　目的

この要領は、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（平成１５年法律第９７号。以下「法」という。）第３１条第１項及び第３２条第１項の規定に基づく立入検査等（以下「検査等」という。）を実施する機関における検査等に係る作業の管理等について細則を定め、検査等の信頼性を確保することを目的とする。

２　組織

（１）検査機関（支所及び出張所を含まない。）及び分析機関の長は、立入検査等に係る作業書の作成及び管理、検査業務全般の管理を行う者（以下「検査責任者」という。）をあらかじめ指名し、当該業務を行わせること。

（２）検査機関（支所及び出張所を含まない。）及び分析機関の長は、検査責任者の業務が適切に遂行されているかを確認すること。

３　機械器具の管理

（１）検査責任者は、機械器具の管理に当たっては、別表に定める項目につき機械器具保守管理標準作業書を作成の上、適切な管理を実施すること。なお、機械器具保守管理標準作業書の作成又は改定については、別添の１及び２に留意すること。

（２）検査責任者は、機械器具保守管理標準作業書に従い、個別の機械器具について管理を担当する検査員を定め、次の事項の確認を行うこと。

①　機械器具について、常時行うべき保守点検（計器にあっては、校正を含む。）及び定期的な保守点検を実施し、不備を発見した場合にあっては、必要な整備又は修理を行い、その記録を作成し保存すること。

②　機械器具について、検査の方法に最も適したものを使用し、使用後は直ちに洗浄、消毒、滅菌、清掃等を行い、適切に乾燥、保管、廃棄等を行うこと。

４　試薬等の管理

（１）検査責任者は、試薬、試液、標準品、標準液等(以下「試薬等」という。)の管理に当たっては、別表に定める項目につき試薬等管理標準作業書を作成の上、適切な管理を実施すること。なお、試薬等管理標準作業書の作成及び改定については、別添の１及び３に留意すること。

（２）検査責任者は、試薬等管理標準作業書に従い、試薬等について管理を担当する検査員を定め、次の事項の確認を行うこと。

①　試薬、試液及び標準液については、その容器に名称、純度又は濃度、保存方法、調製年月日、使用期限等を表示し、適切に保存すること。

また、変質したもの、使用期限を経過したものを使用しないこと。

②　標準品については、その容器に名称、純度又は濃度、保存方法、入手源、入手年月日、使用期限のほか、必要に応じ製造年月日等を表示すること。

　また、変質を防止するために適切な条件下に保存し、適切なものを検査に使用すること。

③　試薬等を調製した場合は、その記録を作成し保存すること。

5　有毒な又は有害な物質及び危険物の管理

（1）検査責任者は、毒物、劇物、高圧ガスその他の有毒、有害物質及び危険物の保管、設置等について関係法令を遵守して適切に管理すること。

（2）検査責任者は、検体、試薬、試液等検査に用いられる全てのものに係る廃棄物について安全かつ衛生的に管理すること。

6　検体の取扱いの管理

（1）検査責任者は、検体の取扱いの管理に当たっては、別表に定める項目につき検体取扱標準作業書を作成の上、適切な管理を実施すること。なお、検体取扱標準作業書の作成及び改定については、別添の１及び４に留意すること。

（2）検体を採取する検査員は、次の事項を遵守すること。

①　検査対象生物等を代表するよう採取すること。

②　ロットによる区分けが必要な場合は、ロットを混同しないよう採取すること。

③　他物の混入及び汚染がないよう採取すること。

④　採取量、採取目的、採取年月日、採取者等その他必要な事項の記録を保存すること。

⑤　検体を入れる容器は、検体の種類、形状及び検査の目的に適したものであって、搬送、洗浄及び滅菌が容易なものを用いること。

（3）検体を搬送する者は、次の事項を遵守すること。

①　他物の混入及び汚染がないよう搬送すること。

②　検査に支障を及ぼさないように保存すること。

③　検体の搬送条件及び保存条件を適切な方法を用いて確認すること。

④　運搬業者等に検体の搬送を委託する場合は、上記①～③の条件に合う方法で搬送されることを確認するとともに、搬送中に開梱等が行われないように封印等を用いて梱包を行うこと。

（4）検体を受領する者は、次の事項を確認するとともに、その記録を作成し保存すること。

①　検査記録書等の関連書類の記載事項と検体に同一性があること。

②　検体の状態が検査の目的に適切であること。

③　検体の量が検査に十分な量であること。

④　検体の搬送が（３）の要件を満たす形で適正に行われていること。

（5）検査責任者は、検体の取扱いについて次の事項が遵守されていることを確認すること。

①　検体の保管に当たっては、検体を保管する容器ごとに検体番号(検体の識別に用

いる記号又は番号をいう。以下同じ。)等を表示するとともに、期限表示がされているものについてはその年月日、特定の保存条件が必要なものについてはその条件をそれぞれ表示すること。

② 検体が温度、湿度、害虫等により変質しないように適切な設備に保存すること。

③ 検体の分割及び検査機関の事業所内の検体の移動に当たっては、汚染や品質低下のおそれがない方法で行い、検体番号等必要な表示を行うとともに、検体の分割又は移動の年月日その他必要な事項を検体ごとに記録し保存すること。

④ 検体の輸送、運搬及び保管に当たって、検体の取り違え、紛失等を防ぐため、必要に応じて関連書類との照合、関連書類の確認等を行うこと。

7 検査の操作等の管理

（1）検査の方法は、当該検査項目に関する関係通知等で定められた方法とすること。

（2）検査責任者は、検査の実施に当たっては、別表に定める項目につき検査実施標準作業書を作成の上、適切な管理を実施すること。なお、検査実施標準作業書の作成及び改定については、別添の１及び５に留意するとともに、具体的な操作の手順の設定に当たっては、最新の知見を踏まえて行うこと。

また、同一の検査項目であっても、検体の種類ごとに操作手順等が異なる場合には、当該検体の種類ごとに作成すること。

8 検査の結果の処理

（1）検査員は、検査終了後、その内容が検査の目的を十分に満たしたものであることを点検の上、必要な事項を検査結果表(以下「結果表」という。)に記入すること。

（2）検査員は、結果表にデータ、標本等を添えて、検査責任者に提出すること。

（3）検査責任者は、結果表等の提出を受け、次の事項を確認すること。

① 検査員の氏名

② 検査の実施の方法

③ データ

④ 結果を算出した根拠(結果を算出するための計算方法を含む。)

⑤ 検出限界又は定量限界

⑥ 標準作業書からの逸脱とその検査結果への影響

⑦ 過去に実施された類似の検査結果との関係

⑧ 検査中の予期し得なかった事項とその検査結果への影響

⑨ その他の必要な事項

（4）検査責任者は、確認終了後、検査の結果に疑義がないと認める場合には、結果表に検査が完了した旨とともに検査終了年月日及び検査の結果を確認した旨を記入し、検査結果通知書を作成する者に回付すること。

（5）検査責任者は、確認終了後、検査の結果に疑義があると認める場合には、他の検査員に再検査を行わせる等必要な措置を講じること。この場合において、検査責任者は、その経過を詳細に記録し保存すること。

（6）検査責任者は、検査の信頼性に悪影響を及ぼす疑いのある事態について、その内容

及び講じられた改善措置を記録し保存すること。

（７）検査責任者は、検査の過程で得られた標本を保存すること。
ただし、その状態を維持することが困難な場合には、この限りでない。

９　検査結果通知書

（１）検査結果通知書は、別途定めている場合を除き、次の事項を記載し、検体ごとに作成すること。

① 検査年月日（検体を採取した日と分析試験を行った日が異なる場合はその両方を記載する。）

② 被検査者の氏名及び住所(法人にあっては、その氏名及び主たる事務所の所在地。)

③ 検査命令書の発行年月日及び番号（法第１７条第１項の生物検査の場合に限る。）

④ 検査対象生物等の名称並びに数量及び重量

⑤ 検査対象生物等の生産地

⑥ 検査対象生物等の輸入届出年月日(法第１７条第１項の生物検査の場合に限る。)

⑦ 検査対象生物等の本邦への到着年月日(検査対象生物等が本邦へ輸入されるものである場合に限る。)

⑧ 検体の数量及び重量

⑨ 検査項目

⑩ 検査の方法(出典及び根拠を含む。)

⑪ 検査結果(検出限界又は定量下限の記載を含む。)

⑫ 検査結果通知書の作成又は発行年月日並びに番号

⑬ 検査実施施設の名称及び所在地

⑭ 本通知書に関する連絡担当者の氏名

⑮ その他

（２）分析機関の長は、検査結果通知書が適正に作成されていることを確認し、発行について承認すること。

１０　検体の保存

検査に用いた検体については、その一部を当該検査に係る検査結果通知書の発行後少なくとも３か月間（可能な場合は１年間)、適切な条件の下に保存すること。ただし、その状態を維持することが困難な場合にあってはこの限りでない。

１１　内部点検

（１）検査責任者は、検査の業務の管理に関する内部点検の方法を記載した文書に基づき内部点検を行い、又はあらかじめ指定した者に行わせ、次の事項を含む記録を作成し保存すること。

① 点検を行った年月日

② 点検項目

③ 点検結果

④ 必要な改善措置又は指導の内容

⑤　確認を行った改善措置又は指導の内容及びその年月日

１２　精度管理

（１）検査責任者は、検査員の技能について、次の事項の評価を定期的に行うこと。

①　通常の検体を用いて、定められた方法により検査結果の再現性を維持できる技能

②　添加量が明らかな検体を用いて、定められた方法により検査する技能

③　真値を伏せた特別な検体を用いて、定められた方法により検査する技能

（２）（１）を行うに当たって、検査責任者は、①から③の評価及び必要に応じこれに基づく改善措置を記録すること。

（３）分析機関の長は、精度管理が適切に行われているか確認するとともに、必要に応じて検査責任者に対し改善等を指示すること。

１３　外部精度管理調査

（１）検査責任者は、外部精度管理調査について、外部機関が実施している精度管理プログラム等（GIPSA、CSL、ISTA等）を活用し、その定期的な参加計画を作成すること。

（２）検査責任者は、外部精度管理調査の結果をとりまとめ、改善措置が必要な場合には、その内容を記録し保存すること。

（３）分析機関の長は、外部精度管理調査が適切に行われているか確認するとともに、必要に応じて検査責任者に対し改善等を指示すること。

１４　データの作成

（１）検査中に得られるデータの作成は、次により行うこと。

①　読み易く、かつ、容易に消すことのできない方法で作成すること。

②　作成の年月日を記載し、検査員等の署名又は捺印を行うこと。

（２）データの内容を変更する場合にあっては、変更前の内容を不明瞭にしない方法で行うとともに、変更の理由及び年月日を記入し、変更者の署名又は捺印を行うこと。

（３）コンピュータ等により直接データの作成を行い、保存する場合にあっては、次の事項を確認すること。

①　作成されたデータの保存、管理の方法が規定されていること。

②　データの処理、記録、伝送、保存等の完全性並びに機密保持等に関して、データ保護のための手順が確立されていること。

③　使用するソフトウエアが十分な信頼性を有すること。

④　コンピュータその他の設備が適切な方法で保守管理されていること。

⑤　電磁的記録のバックアップ及び保護の手順並びに記録への無許可のアクセス又は修正を防止する手順が確立されていること。

⑥　データの内容を変更する場合にあっては、変更前のデータを残すとともに、変更者の氏名、年月日、変更理由を明確にすること。

１５　検体、データ等の保存

（１）検体及びデータ、記録、報告書の控え等(以下「データ等」という。)は、適切な設

備に保存すること。

なお、検体、データ等を別々の施設に保存する場合は、データ等を保存する施設において、検体、データ等の保存場所を確認可能とすること。

（２）検査責任者は、データ等の保存に際し担当者を定め、索引を付ける等、検索に便利な方法で整理するとともに、データ等の損傷又は品質の変化を最小限にとどめるよう適切に措置すること。

（３）データ等の保存期間は、次表のとおりとすること。

事項	保存期間
洗浄剤、害虫駆除及び消毒剤の使用に関する記録 機械器具の保守管理に関する記録 試薬等の管理に関する記録 検体の管理に関する記録 検査に関する記録 検査結果表 検査結果に疑義のある場合に講じられた措置の記録 検査の信頼性に悪影響を及ぼす疑いのある事態の内容とその改善措置に関する記録 内部点検の内容、結果及び指導とそれに対して講じられた改善措置に関する記録 精度管理の内容及び結果並びにこれに基づく改善措置に関する記録 外部精度管理調査の内容及び結果並びにこれに基づく改善措置に関する記録	３年間

別表

作成すべき標準作業書の種類	記載すべき事項
機械器具保守管理標準作業書	1　機械器具の名称 2　常時行うべき保守点検（計器にあっては、校正を含む。）の方法 3　定期的な保守点検に関する計画 4　故障が起こった場合の対応（測定中に故障が起こった場合にあっては、検体の取扱いを含む。）の方法 5　機械器具の保守管理に関する記録の作成要領 6　作成及び改定年月日
試薬等管理標準作業書	1　試薬、試液、標準品及び標準液（以下「試薬等」という。）の容器にすべき表示の方法 2　試薬等の管理に関する注意事項 3　試薬等の管理に関する記録の作成要領 4　作成及び改定年月日
検体取扱標準作業書	1　検体の採取、搬送及び受領に当たっての注意事項 2　検体の管理の方法 3　検体の管理に関する記録の作成要領 4　作成及び改定年月日
検査実施標準作業書	1　検体の種類 2　検査の実施の方法（検査法の名称、検査の具体的な手順等） 3　試薬等の選択及び調製の方法 4　試料の調製の方法 5　検査に用いる機械器具の操作の方法（機械器具の選択または使用に関する注意事項、機械器具の洗浄の方法を含む） 6　検査に当たっての注意事項（試料等の処理または反応条件、試料採取後の検体又は試料溶液残部の保存方法等） 7　検査によって得られた値の処理の方法 8　検査に関する記録の作成要領 9　作成及び改定年月日

（別添）

標準作業書の作成又は改定に当たり留意する事項

1　一般的事項

（１）標準作業書の作成に当たっては、それが実行可能であることを確認し、その記録を保存すること。

（２）標準作業書は、使用者に周知され、いつでも使用できるようそれぞれ適切な場所に備え付けられていること。

（３）検査に対しての継続的な適切さと適合性を確実にするため、標準作業書の定期的な見直しを行い、必要に応じて改定すること。

（４）標準作業書の作成及び改定ごとにその年月日及び理由を明記すること。また、これを管理するためのリスト(改廃履歴)を作成すること。

（５）標準作業書の改定が行われた場合には、旧文書の誤使用を防止するため、旧文書を速やかに撤去する等の措置を講じること。

2　機械器具保守管理標準作業書の作成に当たっては、次の点に留意すること。

（１）「常時行うべき保守点検(計器にあっては、校正を含む。)の方法」として、次の事項が含まれていること。その際、当該機器の取扱説明書等における保守点検に関する記述を考慮し、その要求内容を満たすこと。

①　計器の校正方法、校正頻度及び校正項目

②　機械器具の使用開始時及び使用時の保守点検の方法

③　機械器具の使用終了後の保守点検(洗浄、乾燥、滅菌、保管、廃棄等)の方法

（２）「定期的な保守点検に関する計画」として、各機器ごとに保守点検の日時、保守点検を行う者の氏名等を記載した計画表が作成されていること。その際、消耗部品の交換、機器各部の点検整備、機器全体の分解整備等保守点検の項目ごとに頻度を設定し、当該機器の取扱説明書等における保守点検の頻度、又はそれ以上の頻度で実施する計画とすること。また、大規模な整備等日数が必要な保守点検項目については、当該機器を正常に使用できるまでの間の代替措置についても記述すること。

（３）「故障が起こった場合の対応(測定中に故障が起こった場合にあっては、検体の取扱いを含む。)の方法」として、次の事項が含まれていること。

①　機械器具に故障が起こった場合の修理の方法及び修理業者の連絡先

②　故障時において検査していた検体の取扱いの方法

③　当該機器が正常に使用できるまでの間の代替措置

（４）「機械器具の保守管理に関する記録の作成要領」として、帳簿への次の記載事項が含まれていること。

①　機械器具の名称

②　保守点検の日時

③　保守点検を行った者(修理を行う業者等を含む。)の氏名

④　保守点検の結果

⑤　整備、修理等の日時、実施者及びその内容

3　試薬等管理標準作業書の作成に当たっては、次に留意すること。

（１）「試薬、試液、標準品及び標準液（以下「試薬等」という。）の容器にすべき表示の方法」として、次の事項を適切に表示できる方法が含まれていること。また、試薬等の誤使用等を避けるため、表示事項のうち試薬等の名称、純度又は濃度、保存方法、使用期限及び使用上の注意事項については、他の情報と比較して特に目につく表示となるよう、表示の方法を設定し作業書に盛り込むこと。

①　入手年月日、調製年月日又は開封年月日

②　入手源

③　調製を行った者の氏名

④　名称

⑤　ロット番号(ロットを構成しない試薬等については、製造番号)

⑥　純度又は濃度

⑦　保存方法(常温、冷蔵及び冷凍の別等)

⑧　使用期限

（２）「試薬等の管理に関する注意事項」として、試薬等の保存の方法その他試薬等の管理を行う上で注意すべき具体的事項として、次の事項が含まれていること。

①　試薬等の変質を防ぐために必要な温度・湿度・遮光等の具体的な条件

②　特に、試薬等の濃度又は純度が測定結果に影響を及ぼすものにあっては、表示する濃度又は純度を補正する方法及び頻度（頻度については、当該試薬等の性状、使用頻度、使用量、保存量等を考慮するものとし、原則として検査の実施前に補正を行うような内容とすること。）

③　検査機関において調製した試薬等については、当該試薬等の使用期限を設定する方法（当該試薬等の性状、用途、使用頻度、使用量等を考慮し、当該試薬等を使用することによる測定結果への悪影響を防ぐ方法とすること。）

（３）「試薬等の管理に関する記録の作成要領」には、次の帳簿への記載事項のうち必要なものが含まれていること。

①　入手年月日及び調製年月日

②　入手源

③　名称

④　ロット番号

⑤　純度又は濃度

⑥　保存方法

⑦　試薬等の調製の記録

⑧　試薬等を使用した量、年月日、検査員の氏名

4　検体取扱標準作業書の作成に当たっては、次の事項に留意すること。

（１）「検体の採取、搬送及び受領に当たっての注意事項」として、次の事項が含まれていること。

①　検体の採取に際し輸入届出書等に基づき確認すべき事項
ア　検査対象生物等の名称
イ　検査対象生物等の数量及びロット
ウ　検体の採取、保存及び搬送の方法について必要な事項
エ　検体の採取量
オ　検体の採取日又は予定日
カ　検査の目的
キ　検査方法
ク　被検査者の名称、所在地等
ケ　その他検査の実施に必要な事項
②　検体の採取に際し留意すべき事項
③　検体の容器の条件について必要な事項
④　検体の搬送に際し留意すべき事項
⑤　検体の受領に際し確認すべき事項
ア　輸入生物等に関する記載事項と検体の同一性があること。
イ　検体の状態が検査の目的に適切であること。
ウ　検体の量が検査に十分な量であること。
エ　検体の搬送が前記④の事項について適正に取り扱われていること。
（２）「検体の管理の方法」としては、次の事項が含まれていること。
①　受領した検体の表示の方法
②　検体の保存の方法及び期間
③　検体の分割の方法
④　検査機関又は施設内における検体の移動及び確認の方法
⑤　検体を適切に取り扱うために必要な温度・湿度・遮光等の具体的な条件
（３）「検体の管理に関する記録の作成要領」には、次の帳簿への記載事項が含まれていること。
①　検体の採取の記録
ア　採取量
イ　採取年月日
ウ　採取を行った者の氏名
エ　検体の外観における異常の有無
オ　検体の包装における表示事項
カ　採取の方法
キ　検体の保存の状態
②　検体の受領の記録
ア　輸入届出書等の記載事項と検体が合致している旨の確認
イ　検体の状態が検査の目的に適当である旨の確認
ウ　検体の量が検査に十分なものである旨の確認
エ　上記アからウに定めるほか、検体の採取及び搬送に際し留意すべき事項が遵守されている旨の確認

オ　受領年月日及び検体番号

③　その他の検体の管理の記録

ア　検体の保存の記録

イ　検体の分割の記録

ウ　検査機関又は施設内における移動の記録

5　検査実施標準作業書の作成に当たっては、次に留意すること。

（1）次の事項に関する記載が含まれていること。

①　検体の種類

②　検査の実施の方法(検査法の名称、検査の具体的な手順等)

③　試薬等の選択及び調製の方法

ア　試薬及び試液の調製の方法

イ　標準品の選択及び標準液の調製の方法

ウ　試薬等の廃棄方法

エ　試薬等を誤って使用した場合等の具体的な対処の方法

オ　その他試薬等の選択又は使用に関する注意事項

④　試料の調製の方法

ア　試料採取の方法(採取量を含む。)

イ　前処理の方法

ウ　試料溶液の調製の方法

⑤　検査に用いる機械器具の操作の方法(機械器具の選択又は使用に関する注意事項、機械器具の洗浄の方法等を含む。)

⑥　検査に当たっての注意事項(試料等の処理又は反応条件、試料採取後の試験品又は試料溶液残部の保存方法等)

⑦　検査によって得られた値の処理の方法

ア　結果を算出するための計算方法(回収率を算出するための計算方法を含む。)

イ　結果の評価方法(検出限界又は定量限界等の設定、空試験又は対照試験との関係を含む。)

（2）「検査に関する記録の作成要領」には、次の帳簿への記載事項が含まれていること。

ただし、⑧から⑰までの事項については、帳簿とは別にデータ等としてその記録を保存する場合には内容を確認した旨の記載で差し支えないこと。

①　検査を受けた者の氏名及び住所(法人の場合は、その名称及び所在地)

②　検査を行った年月日

③　検査を行った生物等の名称

④　検査を行った検体の数量

⑤　検査を実施した検査員の氏名

⑥　検体番号

⑦　検査の方法の名称、具体的な手順等

⑧　試薬等の選択又は使用の記録

⑨　標準品の選択及び標準液の調製の記録

⑩　試料採取の記録
⑪　前処理の記録
⑫　試料溶液の調製の記録
⑬　機械器具の選択、使用、洗浄等の記録
⑭　結果を算出するための計算の記録
⑮　結果の評価の記録
⑯　検査実施中の異常及びその対応に関する記録(データの記録及び保管を含む。)
⑰　検査の結果

別記様式第１－１（日本工業規格Ａ４）

整理番号＿＿＿＿＿＿＿＿

立 入 検 査 等 記 録 書

遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第３１条第１項の規定に基づき、本職は下記のとおり、遺伝子組換え生物等の使用等をしている者、又はした者、遺伝子組換え生物等を譲渡し、又は提供した者、国内管理人、遺伝子組換え生物等を輸出した者その関係者に対する立入検査等を実施し、立入検査等記録書を作成した。

この立入検査等記録書を被検査者又は被検査者の委任を受け当該検査に立ち会う者（以下「立会人等」という。）に閲覧させたところ、記載内容が事実と相違ない旨の申し出があったので、共に記名押印（氏名を自署する場合にあっては押印を省略できるものとする。）した。

平成　　　年　　　月　　　日

検 査 職 員

検査機関名及び役職

検査職員氏名　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　印

立 会 人 等

所属及び役職

氏　　　　名　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　印

被検査者の氏名 （法人の場合は法人の名称及び代表者の氏名）	
被検査者の住所 （法人の場合は主たる事務所の所在地）	
被検査者の連絡先 （担当者の電話番号等）	
立入検査等を行った日	平成　　　年　　　月　　　日
立入検査等を行った場所	

備考

「被検査者の氏名」及び「被検査者の住所」については、被検査者と立会人が同一の場合は記載を省略できる。

別記様式第１－２（日本工業規格Ａ４）

整理番号＿＿＿＿＿＿＿

検　査　検　体　の　収　去
収去した検体について
１．種類の名称及び用途
２．生産、輸出入及び流通の状況 （輸入日、生産日、輸入者、輸出者、生産者、原産国、生産地、集荷地、輸出港、その他インボイスまたは船荷証券番号等当該荷口（ロット）を特定することができる情報を記載。）
３．荷姿・包装形態・入庫量・陸揚げ後の荷口の保管場所等
４．収去した量及び収去の対象としたロットの量
５．収去・縮分方法
６．備考
業務に関する帳簿書類その他の検査
その他検査に関し参考となる事項

別記様式第２（日本工業規格Ａ４）

整理番号＿＿＿＿＿＿＿＿

平成　　年　　月　　日

見　本　採　取　票

＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿殿

所属官署
（機関）
氏　　名　　　　　　　　印

遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第３１条第１項の規定に基づき、検査のため収去したので通知する。

収去した貨物	品　名　・　銘　柄	数　　量

積載船（機）名		入港年月日	
蔵置場所		収去年月日	
B／L　No.		申告番号	
採取職員所属氏名	印		
見本処理区分	□ 返　却　　□ 保　存　　□ 分　析		
返　却　欄	申告者受取印	受取年月日	
備　　考			

（注）１．太線枠内は、税関以外の公務員が見本採取したときは記入を要しない。
２．本様式は、３片を１組とし、第１片を原本、第２片を通知用、第３片を倉主等用とする。

別記様式第３（日本工業規格Ａ４）

整理番号＿＿＿＿＿＿＿

違反連絡票

収去した生物の種類の名称	
収去した生物の用途	
収去した生物の輸出国又は地域（生産地）	
輸入量（入庫量）	
輸入（生産）年月日	
被検査者の氏名及び住所	
収去日	
収去場所	
分析検査の結果	
分析検査日	
分析者	

平成　　年　　月　　日、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第３１条第１項の規定に基づき収去した上記の生物等について、違反が認められましたので連絡します。

平成　　年　　月　　日

分析検査実施機関名

備考

１．被検査者の氏名及び住所の欄には、担当者の電話番号等を併せて記入すること。

２．以下の書類の写しを添付すること。

①　当該立入検査等に係る記録書

②　当該分析試験に係る実験記録、データ等（再試験等も含めたもの）

別記様式第４（日本工業規格Ａ４）

整理番号＿＿＿＿＿＿＿＿

分析検査結果連絡書

平成　　年　　月　　日

検査機関の長　殿

分析機関の長

遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第３１条第１項の規定に基づき収去した生物等について、分析検査の結果を次のとおりお知らせします。

収去した生物の種類の名称	
収去した生物の用途	
収去した生物の輸出国又は地域（生産地）	
被検査者の氏名及び住所	
収去日	
収去場所	
分析検査の結果	
分析検査日	
分析者	

別記様式第５（日本工業規格Ａ４）

整理番号＿＿＿＿＿＿＿＿

分析検査結果通知書

平成　　年　　月　　日

被検査者　殿

検査機関の長　　　　印

遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第３１条第１項の規定に基づき収去した生物等について、検査の結果を次のとおりお知らせします。

収去した生物の種類の名称	
収去した生物の用途	
収去した生物の輸出国又は地域（生産地）	
収去日	
収去場所	
分析検査の結果	

別記様式第６－１（日本工業規格Ａ４）

立入検査等結果報告書

平成　　年　　月　　日

消費・安全局長　殿

分析機関の長

遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第３１条第１項の規定に基づき立入検査等を実施したので、その結果を別添のとおり報告します。

年　　月　～　　年　　月　　検査実施分	
立入検査等実施件数（うち違反件数）	件(　　　　　　件)

備考

別添として、別記様式第６－２により月別の一覧を添付すること。

別記様式第６－２（日本工業規格Ａ４）

平成　　年　　月分　（分析機関名：　　　　　　　）

整理番号	検査日	検査場所	被検査者	収去した生物の種類の名称及び用途	輸出国又は地域（生産地）	分析検査の項目	分析検査の結果	その他

備考
1　収去した検体ごとに一覧を作成すること。
2　「分析検査の項目」の欄には、分析の対象とした遺伝子組換え生物の名称を記載すること。
3　「分析検査の結果」の欄には、分析の対象とした遺伝子組換え生物の検出の有無または定量結果を記載すること。